

1/19/1 DIALOG(R)File 351:Derwent WPI (c) 2006 Thomson Derwent. All rts. reserv.

013305399 **Image available**

WPI Acc No: 2000-477336/200042

XRAM Acc No: C00-143620

XRPX Acc No: N00-355777

Multiple sample scanner-type fluorescence detection, e.g.
for clinical diagnosis, has stationary sample holder with rotational
light emitter and receiver

Patent Assignee: TOSOH CORP (TOYJ)

Inventor: HAYASHI T; ISHIGURO T

Number of Countries: 027 Number of Patents: 003

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 1024355	A1	20000802	EP 2000101404	A	20000125	200042 B
JP 2000214090	A	20000804	JP 9918054	A	19990127	200042
US 6396581	B1	20020528	US 2000492302	A	20000127	200243

Priority Applications (No Type Date): JP 9918054 A 19990127

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

EP 1024355	A1	E	20	G01N-021/25	
------------	----	---	----	-------------	--

Designated States (Regional): AL AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT

LI LT LU LV MC MK NL PT RO SE SI

JP 2000214090	A		15	G01N-021/64	
---------------	---	--	----	-------------	--

US 6396581	B1			G01N-021/64	
------------	----	--	--	-------------	--

Abstract (Basic): EP 1024355 A1

NOVELTY - Fluorescence detection apparatus is new. The samples are held around a circle or concentric circles. A rotatable partition plate (3) carries a light director (5) and fluorescence receiver (6). The excitation light is successively introduced, by rotation of the partition plate, into sample vessels (4). Emitted fluorescence is detected.

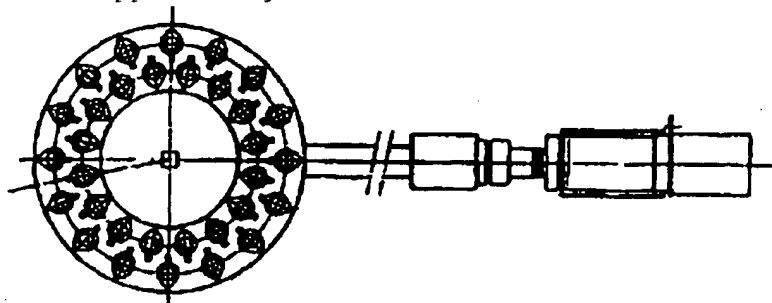
DETAILED DESCRIPTION - Fluorescence detection apparatus is new. The samples are held around a circle or concentric circles. A rotatable partition plate (3) carries a light director (5) and fluorescence receiver (6). The excitation light is successively introduced, by rotation of the partition plate, into sample vessels (4). Emitted fluorescence is detected. The partition plate is connected to a rotational driver (7). The light director (5) is a reflection mirror which deflects light delivered from a source (8). The light director is rotatable with the partition plate together with the receiver (6). The samples are successively exposed to the irradiating light and emitted fluorescence is collected by the receiver (6) and transmitted by a light guide (1) consisting of numerous optical fibers to a photosensor (2). A temperature-control facility may be provided so that incubation of the samples may be effected at a predetermined temperature. In the illustrated the samples are arranged in two concentric circles in a manner in which they can each be excited by light from the center without interception of the light path by other sample vessels allowing individual excitation of all of the samples.

USE - For real-time monitoring of numerous samples in clinical diagnosis, e.g. samples incubated at a predetermined temperature in an enzyme reaction.

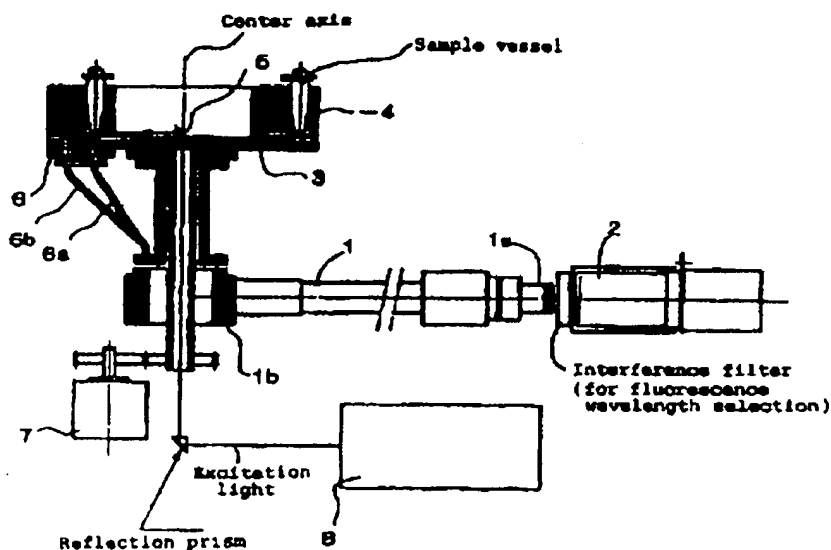
ADVANTAGE - The apparatus provides quick treatment of many samples, and has high sensitivity, high reliability, low cost and small size.

DESCRIPTION OF DRAWING(S) - The figures show schematics of the fluorescence detection apparatus.

Light guide (1)
 Photosensor (2)
 Partition plate (3)
 Sample vessels (4)
 Mirror (5)
 Fluorescence receiver (6)
 Rotational driver (7)
 Light source (8).
 pp; 20 DwgNo 1/9



Plan view



Front view (partially in cross section)

Title Terms: MULTIPLE; SAMPLE; SCAN; TYPE; FLUORESCENT; DETECT; CLINICAL;
 DIAGNOSE; STATIONARY; SAMPLE; HOLD; ROTATING; LIGHT; EMITTER; RECEIVE
 Derwent Class: B04; D16; J04; S03

International Patent Class (Main): G01N-021/25; G01N-021/64

International Patent Class (Additional): G01N-021/78; G01N-035/00

File Segment: CPI; EPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-L01; B11-C07B3; B12-K04A; D05-H09; J04-B01A

Manual Codes (EPI/S-X): S03-E04A; S03-E04D

Chemical Fragment Codes (M1):

01 M423 M750 M781 M905 P831 Q233 Q435 Q505 RA00GC-K RA00GC-A RA00GC-D

Chemical Fragment Codes (M6):

02 M905 P831 Q233 Q435 Q505 R515 R521 R624 R625 R632

Specific Compound Numbers: RA00GC-K; RA00GC-A; RA00GC-D

Key Word Indexing Terms:

01 184598-0-0-0-CL, DET

Derwent WPI (Dialog® File 351): (c) 2006 Thomson Derwent. All rights reserved.

© 2006 Dialog, a Thomson business

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-214090

(P2000-214090A)

(43)公開日 平成12年8月4日(2000.8.4)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
G 0 1 N	21/64	C 0 1 N 21/64	Z 2 G 0 4 3
	21/78	21/78	C 2 G 0 5 4
	35/00	35/00	B 2 G 0 5 8

審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 15 頁)

(21)出願番号 特願平11-18054

(22)出願日 平成11年1月27日(1999.1.27)

(71)出願人 000003300

東ソー株式会社

山口県新南陽市開成町4560番地

(72)発明者 林 俊典

神奈川県相模原市旭町23-4-107

(72)発明者 石黒 敬彦

神奈川県横浜市港北区岸根町490-17

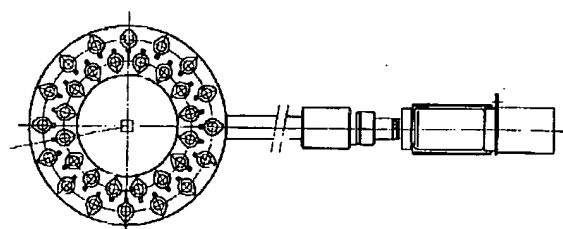
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 多サンプル対応のスクャナー型蛍光検出装置

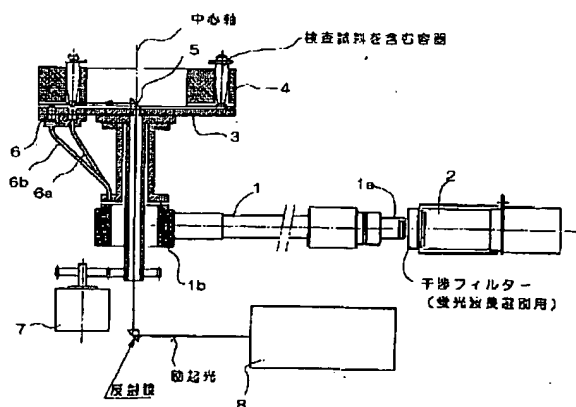
(57)【要約】

【課題】(a)高精度な温度調節、(b)多数試料の迅速処理、(c)高感度、(d)高信頼性、(e)低コスト、(f)小型化等の要求を満たす、蛍光信号のリアルタイムモニタリング用蛍光検出装置を提供する。

【解決手段】試料容器を1個の円弧上または同心で半径の異なる複数の円弧上に展開して固定保持するサンプルホルダー、該円弧中心を中心として回転可能な駆動手段に連結された仕切り板、該仕切り板に固定装備されて一体的に回転する励起光用光学手段と蛍光用光学手段、多数の光ファイバーで構成された第一ライトガイド、1個の光センサー、そして励起光を発生する1個の光源を装備し、仕切り板、励起光用光学手段及び蛍光用光学手段の一体的な回転駆動により、円弧上に配列された試料の蛍光検出を順次かつ繰り返し実施し、第一ライトガイドによって光センサーに伝達する。



平面図



正面図 (-部断面)

【特許請求の範囲】

【請求項1】試料容器を1個の円弧上または同心で半径の異なる複数の円弧上に展開して固定保持するサンプルホルダー、該円弧中心を中心として回転可能な駆動手段に連結された仕切り板、該仕切り板に固定装備されて一体的に回転する励起光用光学手段と蛍光用光学手段、多数の光ファイバーで構成された第一ライトガイド、1個の光センサー、そして励起光を発生する1個の光源を装備した蛍光検出装置であって、(a)前記励起光用光学手段は、前記励起光を仕切り板の回転中心の側から導いて、1個の試料容器を選択的に励起するよう配置され、(b)前記蛍光用光学手段は、試料容器を展開した半径の異なる円弧と同じ数だけ用意して、それぞれは、少なくとも1個の第二ライトガイドを含み、試料容器からの蛍光信号を半径の異なる円弧ごとに採取できるよう配置され、(c)第一ライトガイドの光ファイバーは、蛍光信号入射端において、すべての蛍光用光学手段の蛍光信号出射端が仕切り板の回転に伴って描く円環状の軌跡に対向するよう展開配列されており、さらに、蛍光信号出射端において、前記光センサーと対向するよう密集して配列されており、そして、(d)仕切り板の回転によって、円弧上に展開された各試料容器に順次励起光を導きつつ、同時に、第二ライトガイドを含む蛍光用光学手段および第一ライトガイドを介して蛍光を検出する、ことを特徴とする、蛍光検出装置。

【請求項2】第二ライトガイドが単一または複数本の光ファイバーであることを特徴とする、請求項1の蛍光検出装置。

【請求項3】第一ライトガイドを構成する光ファイバーが、蛍光信号入射端において、円環状に間断なく展開配置され、その円環中心が仕切り板の中心軸上にあることを特徴とする、請求項1又は2の蛍光検出装置。

【請求項4】試料を所定温度に制御するための温度調節手段を装備することを特徴とする、請求項1、2又は3の蛍光検出装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、試料に含まれる特定物質からの蛍光信号を検出し、検出された蛍光信号量からその定量を行う蛍光検出装置に関し、特に、酵素反応など所定温度でのインキュベーションを必要とする臨床診断分野において、多数の試料についてリアルタイムモニタリング（蛍光信号量の経時変化の追跡）をする場合に有用な蛍光検出装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】酵素反応による蛍光性反応生成物の生成の様子をリアルタイムモニタリングする場合等では、所定温度で試料（反応液）をインキュベーションしつつ、蛍光検出を行う必要がある。しかも臨床診断等の分野では、同時に多数の試料を迅速に処理する必要もある。

【0003】従来の臨床診断の分野等で使用されてきた第1の方法は、試料を温度調節されたガイドに沿って搬送しつつ順次、蛍光検出する方法である。例えば、アルミニウム合金等の熱伝導性の良好な材料で製作したガイドをヒーター等で温度調節し、ホルダーに載置した試料を1又は複数個ずつチェーンやターンテーブル等を使ってガイドに沿って搬送し、ガイドに沿って配置した蛍光検出器により、順次、蛍光信号を検出するのである。

【0004】この他にも、例えば、多数の試料を収容できる、連結型の試料容器やタイタープレート等を温度調節手段上に載置することで、多数試料について同時に蛍光検出する第2の方法も知られている。この場合に使用される蛍光検出装置は、(a)複数個の光センサーもしくは(b)マルチチャンネル型の光センサーを搭載するか、又は、(c)光センサーもしくはライトガイド（光ファイバー等の、試料容器から射出した蛍光信号を光センサーに導く手段）を移動するための機械的な移動手段、を有することを特徴とする。

【0005】(a)の装置は、同時に蛍光検出を行う試料の数だけ光センサーを使用し、各試料からの蛍光信号を独立して検出する蛍光検出装置である。このような装置では、光源からの励起光を分割して試料に導くライトガイドを用いる構成が一般的である。

【0006】(b)の装置は、(a)の複数個の光センサーの代わりにCCDやフォトダイオードアレイなどのイメージセンサーを使用する装置である。これにより、整列した試料からの蛍光信号を発光点の位置関係を保持した状態で画像として検出する。このような装置でも、1個の光源からの励起光を分割型のライトガイド（光学機器や光ファイバー等）を用いて各試料に導く構成が一般的である。

【0007】また(c)の装置では、光センサーが多数の試料上を機械的に移動したり、試料が順次光センサーによる蛍光検出位置まで移動するが、最も多く利用されているのは、ライトガイドを機械的に移動する構成である。この構成では、励起光用ライトガイドと蛍光用ライトガイドを用い、両ガイドの試料側に配置する端を一体化した上で同時に移動させることによって、多数の試料を順次、励起しつつ蛍光検出を行うのである。

【0008】その他、以上の装置の後述する課題を解決する手段として発明された、特願平10-254913号のようなスキャナー型蛍光検出装置もある。これは、図3に図示したように、試料容器を円弧状に展開配列し、仕切り板を挟んでリング型ライトガイドのリング部を近接静置し、仕切り板には励起用光学手段と蛍光用光学手段を固定装備して一体的に回転させ、これにより個別採取された蛍光信号をリング型ライトガイドで光センサーに伝達するというものである。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】従来の蛍光検出装置を

用い、所定温度で試料をインキュベーションしつつ、試料に含まれる特定物質からの蛍光信号の経時的変化をリアルタイムモニタリングするには、以下のような課題がある。

【0010】前記第1の方法には、試料を温度調節されたガイドに沿って搬送し、順次、蛍光検出することから、温度調節精度の不足、サンプル処理数の限界、そして、キャリーオーバーの危険等がある。すなわち、試料の搬送ガイド全体を均一な温度に調節すること、及び、搬送ガイドと試料間の熱伝導性をガイド全体に渡って一定にすることは困難であり、その結果、搬送中に試料の温度変化が生じたり、試料間の温度が異なることがある。また、搬送されてきた試料を1個ずつ蛍光検出するため、経時的な蛍光信号の変化を長時間に渡ってモニタリングする場合には同一試料を繰り返し搬送しなければならず、このため処理可能な試料数には限界がある。また更には、試料飛沫による試料間の汚染（キャリーオーバー）の危険性を排除できない。

【0011】前記第2の方法は、第1の方法の課題は解決できるものの、以下のような新たな課題を生じかねない。

【0012】まず(a)は、複数の光センサーを搭載するために製造コストが高くなるうえ、光センサーの数に見合ったスペースが必要となる。装置を小型化しようするとスペースの制限から数個程度の光センサーしか搭載できず、結局、同時に処理できる試料は少量に止まる。フォトダイオードなどの小型の光センサーを使用することも考えられるが、微弱な蛍光に対しては感度不足という課題があり、また、個々のフォトダイオードの感度補正が必要になる。更に、蛍光信号の強度は励起光強度に比例するため、光源からの励起光を分割すると検出感度の悪化を招くという課題もある。

【0013】次に(b)は、微弱な蛍光に対しては感度不足のため、適当ではない。感度不足を補うためにマイクロチャンネルプレートによる電子増幅を介して光量の増幅を行う素子（いわゆるイメージインテンシファイア）等を併用することもあるが、コストが極めて高くなるため、特殊な研究用途にしか使用されていないのが現状である。また、広範囲からの蛍光を画像として検出するため、レンズ収差に起因する光量検出の不平等さや、膨大なデータ量に起因するデータ処理の負担という課題もある。

【0014】そして(c)は、ライトガイドの屈曲性の限界により移動範囲が限定され、しかも断線の可能性がある。またライトガイドには屈曲による光伝達効率の変化があるため、再現性の良好な蛍光検出を行うことが困難である。一方、光センサーの機械的な移動にも、付随するケーブル類の移動を伴うために移動範囲が限定され、ケーブル類の断線の可能性があるという課題がある。

【0015】また、特願平10-254913号のようなスキャナー型蛍光検出装置は、以上の課題は解決できるものの、試料容器の保持本数の増加に伴って、装置の大型化および高コスト化という問題が発生する。すなわち、その円環状の入射端が、円弧上に展開された試料容器に仕切り板を挟んで対向して近接配置されているため、試料容器の保持本数の増加に伴って、光ファイバーを配列した円環の径を大きくせねばならず、使用する光ファイバーの数も増加する。さらに、ライトガイドの蛍光信号出射端も太くなるため、蛍光信号出射端に対向配置した光センサーの光感度面や干渉フィルターなど蛍光波長の選別手段の面積も大きくなる。すなわち、ライトガイド、光センサー、干渉フィルターなどの光学手段の個々の大型化・コストアップ化が重なり、装置全体では深刻な大型化や高コスト化に帰結する。

【0016】このように、蛍光信号のリアルタイムモニタリング、とりわけ試料を所定温度でインキュベーションしつつリアルタイムモニタリングするための蛍光検出装置には、(a)高精度な温度調節、(b)多数試料の迅速処理、(c)高感度、(d)高信頼性（断線や可動部品の動作不良等に代表される機械的トラブルの低減、蛍光検出の再現性の向上、キャリーオーバーの危険性の低減）、(e)低コスト（装置構成の単純化、データ処理等において高価な部品を使用しないこと）、そして、(f)装置の小型化、等の要求を満たす必要がある。

【0017】そこで本発明は、かかる要求を満たす蛍光検出装置の提供、特に、固定静置された多数の試料についてリアルタイムモニタリングをする場合に有用で、試料の分析処理数の増加に伴う大型化や高コスト化を抑制することができる蛍光分析の光学系を用いた蛍光検出装置の提供と温度コントロール手段によるインキュベーション機能を付与した蛍光検出装置の提供を目的とするものである。

【0018】

【課題を解決するための手段】前記目的を達成するために成された本願請求項1項の蛍光検出装置は、試料容器を1個の円弧上または同心で半径の異なる複数の円弧上に展開して固定保持するサンプルホルダー、該円弧中心を中心として回転可能な駆動手段に連結された仕切り板、該仕切り板に固定装備されて一体的に回転する励起光用光学手段と蛍光用光学手段、多数の光ファイバーで構成された第一ライトガイド、1個の光センサー、そして励起光を発生する1個の光源を装備した蛍光検出装置であって、(a)前記励起光用光学手段は、前記励起光を仕切り板の回転中心の側から導いて、1個の試料容器を選択的に励起するよう配置され、(b)前記蛍光用光学手段は、試料容器を展開した半径の異なる円弧と同じ数だけ用意して、それぞれは、少なくとも1個の第二ライトガイドを含み、試料容器からの蛍光信号を半径の異なる円弧ごとに採取できるよう配置され、(c)第一ラ

イトガイドの光ファイバーは、蛍光信号入射端において、すべての蛍光用光学手段の蛍光信号出射端が仕切り板の回転に伴って描く円環状の軌跡に対向するよう展開配列されており、さらに、蛍光信号出射端において、前記光センサーと対向するよう密集して配列されており、そして、(d)仕切り板の回転によって、円弧上に展開された各試料容器に順次励起光を導きつつ、同時に、第二ライトガイドを含む蛍光用光学手段および第一ライトガイドを介して蛍光を検出することを特徴とする、蛍光検出装置である。

【0019】また、前記目的を達成するために成された本願請求項2項の蛍光検出装置は、第二ライトガイドが単一または複数本の光ファイバーであることを特徴とする蛍光検出装置である。

【0020】また、前記目的を達成するために成された本願請求項3項の蛍光検出装置は、第一ライトガイドを構成する光ファイバーが、蛍光信号入射端において、円環状に間断なく展開配置され、その円環中心が仕切り板の中心軸上にあることを特徴とする蛍光検出装置である。

【0021】そして前記目的を達成するために成された本願請求項4項の蛍光検出装置は、少なくともサンプルホルダーを収容する断熱槽と、試料を所定温度に制御するための温度調節手段を装備することを特徴とする蛍光検出装置である。

【0022】

【発明の実施の形態】以下、本発明の蛍光検出装置について、その実施形態を図面に基づき詳細に説明する。

【0023】図1は、固定静置された多数の試料についてリアルタイムモニタリングをする場合に有用で、試料の分析処理数の増加に伴う大型化や高コスト化を抑制することができる蛍光分析の光学系を用いた蛍光検出装置で、請求項1、2乃至3記載の一実施形態の概要を示したものである。

【0024】サンプルホルダー(4)は、試料を収容した試料容器を同心で半径の異なる2個の円弧上に展開した状態に固定保持する。このため、2個の円弧上に試料容器の外部形状に適合した保持孔を備える。また、内側の円弧上と外側の円弧上に配置した試料容器は、互いに、円弧中心が見通せるように互い違いに保持する。これにより、後述する励起光用光学手段の作用により円弧中心の側から入射してくる励起光がある一つの試料容器を励起する際、他の試料容器によってその進路を妨害されず、すべての試料容器に対する個別励起が可能となる。

【0025】なお、それぞれの円弧における試料容器の展開は、図に示したような均一間隔で互い違いの展開に制限されず、すべての容器から円弧中心が見通せる限り、不均一間隔の展開であっても良い。また、サンプルホルダーに固定保持する試料容器の数に制限はなく、円

弧の長さや試料容器の外径等から決定すれば良い。さらに、サンプルホルダー上面形態は円に制限されず、四角形等の多角形とすることもできる。

【0026】試料容器は、励起光及び蛍光を透過し得、収容する試料に対して化学的に安定な材料で構成されたものであれば特に制限はなく、蛍光検出に供する試料量等を勘案して適宜選択使用することができる。特に、いわゆるPCRやNASBA等において、酵素的に核酸を増幅しつつ反応の様子をモニターする場合において、増幅核酸の飛散を防止する目的では密閉栓を有する試料容器を用いることが好ましい。

【0027】固定配置されたサンプルホルダーの下方には、仕切り板(3)が、駆動手段(7)と連結されて前記円弧上に展開された試料容器の該円弧中心を中心として回転可能に配置されている。さらに、この仕切り板には、励起光用光学手段(5)と蛍光用光学手段(6)が固定装備され、駆動手段(7)の作用により、これらが一体的に回転する。

【0028】仕切り板(3)は、回転モーメントを均一とするために円盤を用いて構成することが好ましく、その大きさ(直径)は、少なくとも前記円弧中心と試料容器の離間距離より大きくして、後述する蛍光用光学手段が存在する場合を除き、試料容器から第一ライトガイドへ至る蛍光光路が遮断されるようにする。仕切り板は試料容器の上方に配置することも可能であるが、サンプルホルダーへの試料容器の装着のために仕切り板を脱着する等の工夫が必要になる。さらに、試料量は数十 μ lと少量であることが多く、その場合、試料容器の底面から蛍光信号を採取する方が蛍光検出の効率が高い。これらの理由により、仕切り板はサンプルホルダーの下方に配置することが好ましい。

【0029】仕切り板に固定装備される励起光用光学手段(5)は、光源(8)から発生した励起光を前記円弧状に展開された試料容器から選択的に1個の試料容器のみに導くための手段であり、図1の例では光源(8)から反射鏡を経由して仕切り板の回転軸中空部に導かれた励起光の光路を直角に曲げる反射鏡(5)である。なお、1個の試料容器にのみ励起光を導くとは厳格な意味で使用されるものではなく、励起光を意図的に1個の試料容器に導けば十分であり、例えば当該1個の試料容器外壁における反射により、微量の励起光が他の試料容器に到達することがあっても特に支障はない。また、励起光を平行光化する目的で凸レンズなどの光学部品を併用しても良い。図1の例とは異なり、半導体レーザーや発光ダイオードなどの小型の励起光源を使用する場合には、回転する仕切り板の上に光源自体を固定配置する構成により光学レンズなどの励起光用光学手段と光源を一体化することもできる。

【0030】仕切り板に固定装備される蛍光用光学手段(6)は、前記のようにして励起光が導かれた1個の試

料容器から射出される蛍光のみを、第一ライトガイド（１）に伝達するための手段である。従って、蛍光用光学手段の蛍光入射端と蛍光出射端は、それぞれ試料容器と第一ライトガイドに近接して対向配置させる。

【００３１】この蛍光用光学手段は、仕切り板の回転に伴って一体的に回転するため、試料容器が半径の異なる複数の円弧上に展開されている場合には、その円弧と同じ数、すなわち、図１の例では２個ほど固定装備しなければならない。また、それらの蛍光信号入射端は、それぞれ、試料容器が展開配置された２個の円弧に対向し、しかも該円弧の共通の垂直線上に固定配置される。これにより、１個だけ選択励起された試料からの蛍光を、それが内側円弧上であれ、外側円弧上であれ、個別に収集することが可能となる。

【００３２】また、仕切り板は、その他の試料容器から蛍光が射出されたとしても、該蛍光が第一ライトガイドに到達することを防御するので、同時に複数の試料容器からの蛍光信号が光センサーに入射することはない。これにより、１個の光センサーを装備するのみで、多数の試料の各々について、蛍光信号を間欠的にリアルタイムモニタリングすることが可能となる。

【００３３】この蛍光用光学手段（６）の一つ一つは、仕切り板に試料容器からの蛍光信号を透過させるための小さな孔やスリットとともに、その小さな穴やスリットと第一ライトガイドを中継する第二ライトガイド（６ａ）から構成される。むろん、第二ライトガイドの前後に集光用レンズ等の光学部品を挿入し、蛍光信号を集光するようにしても良い。第二ライトガイドとしては、柔軟性に富む光ファイバーの使用が最適であるが、単一口ッド状、単一プレート状および多数の細い光ファイバーを束ねて溶着されたコンジット型などの剛性なライトガイドであっても良い。光ファイバーの曲げ半径の制約がある場合や剛性なライトガイドを使用した場合には、これら第二ライトガイドの両端またはそのいずれかに、ミラーやプリズムなどの偏角素子を挿入することも考えられる。

【００３４】第一ライトガイド（１）は、多数の光ファイバーで構成され、第二ライトガイドから出射した蛍光信号を光センサー（２）に伝達する役割を担う。

【００３５】第一ライトガイドの蛍光信号入射端は、２個の蛍光用光学手段（６）の蛍光信号出射端が仕切り板（３）の回転に伴って描く円環状の軌跡に対向するよう、構成要素である光ファイバーを展開配列しておく。その配列範囲は、該円環状軌跡をカバーするものであれば良く、その形状も該円環状軌跡と同一である必要はないが、該円環状軌跡と同じ径の円環状に間断なく配列されていることが理想的である。光ファイバーの配列範囲を小さくするためには、２個の蛍光用光学手段の蛍光信号出射端は互いに近接して設置した方が良い。

【００３６】第一ライトガイド（１）の蛍光信号出射端

は１個の光センサー（２）に対向配置される。両者は、第一ライトガイドの端から出射した蛍光信号が減衰することなく光センサーに入射し得るように、十分に近接して固定することが好ましい。また第一ライトガイドを構成する各光ファイバーの端は、適当な金具で端面を揃えてバンドルして密集させることが特に好ましい。光センサーの受光面感度は必ずしも均一ではないが、このようにバンドルして端面面積を狭くしておけば、比較的感度が均一な部分で蛍光信号を受光することが可能となるからである。

【００３７】さて、上記のように、（１）多数の光ファイバーで構成されたライトガイドであって、（２）その一端が間断なく円環状に配列された形態であり、（３）他方の端が端面を揃えてバンドルして密集した形態である、理想的な第一ライトガイドはとして、光学顕微鏡の照明装置に利用されているリング型ライトガイドを例示することができる。すなわち、リング型ライトガイドのリング部をそのリング中心が仕切り板の回転中心軸上にくるように固定静置すれば良い。

【００３８】本発明の装置は、多数の試料の蛍光検出を行うにもかかわらず、１個の光センサー（２）を装備するのみである。光センサー（２）の近傍には第一ライトガイドの蛍光出射端バンドルが固定配置されるが、両者の間には検出すべき蛍光波長を選択的に抽出するための光学フィルターを配置することもできる。なお光学フィルターは、第一ライトガイドと光センサーの間に配置すること以外に第一ライトガイドの蛍光信号入射端の前面に配置したり、仕切り板に固定する蛍光用光学手段の一部として配置することもできる。

【００３９】光源（８）は、試料の励起波長を考慮した上で選択すればよいが、励起用光学手段を通して１個の試料容器に到達した励起光が充分な光量となるようなものを使用する。また１個の試料容器のみに導くため、励起光は平行光であるか、又は、通常の光学部品を用いて平行光化しておくことが好ましい。より具体的にアルゴンイオンレーザーや半導体レーザー等のレーザー光源、発光ダイオード等を例示できる。

【００４０】以上のような構成を採用することにより、図１の装置では、仕切り板の回転にともなって、サンプルホルダーに固定保持された試料容器に、励起用光学手段により１個ずつ、順次、励起光が導かれる。同時に試料容器から射出した蛍光は、第二ライトガイドを含む蛍光用光学手段を介して第一ライトガイドに入射し、光センサーによって検出される。従って、コンピューター等を用いて仕切り板の回転を制御しつつ、光センサーの検出結果を蓄積すれば、サンプルホルダーに保持された任意試料の間欠的な蛍光検出結果が得られ、リアルタイムモニタリングが実現できるのである。

【００４１】このように、蛍光用光学手段として第二ライトガイドを含むことにより、第一ライトガイド（１）

の蛍光信号入射面を試料容器に対向して近接配置させる必要がなくなる。従って、第一ライトガイドとして使用するリング型ライトガイドは、試料容器の保持本数に無関係に、小さなリング径のリング型ライトガイドを採用できる。また、第一ライトガイドとして、小さなリング径のリング型ライトガイドを採用した場合でも、同心で半径の異なる複数の円弧上に試料容器を展開配置することができ、試料容器の展開を小範囲に密集させることができる。これは、試料容器の保持本数の増加に伴って装置全体の大形化、高コスト化を抑制することができるという利点をもたらす。

【0042】また、図1では試料容器を展開する半径の異なる円弧の数および蛍光用光学手段の数をそれぞれ2個としたが、以上の説明から明確のように、両者の数が同じであれば、それぞれの試料容器から円弧中心を見通せる限り、いくつでも良い。

【0043】また、図2は、固定静置された多数の試料についてリアルタイムモニタリングをする場合に有用で、試料の分析処理数の増加に伴う大型化や高コスト化を抑制することができる蛍光分析の光学系に、温度コントロール手段によるインキュベーション機能を付与した蛍光検出装置で、請求項4記載の一実施形態の概要を示したものである。すなわち、図2の蛍光検出装置は、図1で説明した蛍光分析の光学系に、試料を所定温度に制御するための温度調節手段を付与したものである。

【0044】試料を所定温度に制御するための温度調節手段は、1個の加熱ヒーターと1個の温度センサーを1組とし、図2の例では、2組使用している。これは、同心で半径の異なる複数の円弧上に展開した試料容器を同一の温度で制御するための措置であり、試料容器を1個の円弧上に展開した場合には、1本のヒーターと各試料容器の離間距離を同じにすることができるため、1組の温度調節手段で十分である。

【0045】サンプルホルダーの上面形状を円環状とし、その内周部と外周部に加熱ヒーター(9a, 9b)と温度センサー(10a, 10b)をそれぞれ1個ずつ貼付している。両者を温度調節器に接続し、同じ温度に設定して制御すれば、サンプルホルダーにおける両温度センサー間を同一温度で制御することが可能となる。すなわち、各試料容器とサンプルホルダーの接触面をすべて同一温度にすることができ、サンプルホルダーからの熱伝導により、試料を所定温度に制御することができるのである。

【0046】さらに、図2の例では、サンプルホルダー、仕切り板と一部の回転駆動手段、仕切り板に固定装備された励起光用光学手段と蛍光用光学手段、および、第一ライトガイドの蛍光信号入射部を収容する断熱槽を設置している。断熱槽は、温度調節手段の作用により温度コントロールされた試料温度を外部温度と遮断し、より高精度な温度調節を可能とするために、設置すること

が好ましい。また、このような目的のために使用するのであるから、少なくともサンプルホルダーをその内部に収容するものでも良い。

【0047】もちろん、温度調節手段は上記の方法に限定されず、例えば、少なくともサンプルホルダーを一定温度の恒温槽内に収容して、空気などの対流により制御することなども可能である。さらに、温度調節手段は、ヒーターなどを使用した加熱の場合に限定されず、冷却の場合や、加熱と冷却を繰り返す熱サイクルの場合もある。冷却の場合には、ペルチェ素子や冷却ファンなどの冷却素子を加熱ヒーターに替えて使用すれば良い。また、熱サイクルの場合には、加熱ヒーターなどの加熱素子とペルチェ素子や冷却ファンなどの冷却素子を併用すれば良い。

【0048】このように、図1の蛍光検出の光学系と試料の温度調節手段を組み合わせることによって、多数の試料で酵素反応など所定温度でのインキュベーションを高精度に実施でき、同時に、酵素反応に伴う蛍光信号の経時変化をリアルタイムモニタリングする蛍光検出装置を提供することが可能となる。

【0049】図4～7は、本発明の蛍光検出装置の具体的な形態を詳細を説明するための図であるが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0050】サンプルホルダー(4)は、図7に示したように、円環状のアルミ合金製部品2個を上下に組み合わせたものである。上の円環状部品(4a)には、32個の試料容器を挿入して保持するために、試料容器外径に適合する32個の穴($\phi 8$)を直径80mmと直径106mmの二つの円弧上に、それぞれ16個ずつ等間隔に展開配置した。なお、内側円弧上の穴と外側円弧上の穴は、それぞれが、仕切り板の中心軸を見通せるよう、互い違いに配置した。下の円環状部品(4b)には、試料容器の底を密着支持する32個の窪み、励起光を通過させるための32個の穴($\phi 2$)及び蛍光信号を採取するための16個の穴($\phi 2$)を、それぞれ上の円環状部品の32個の穴に対応する位置に設けた。

【0051】サンプルホルダーの下方で試料容器に近接する位置には、円盤状の仕切り板(3)を配置した。本仕切り板(3)の中心部には、励起光用光学手段(5)として、回転軸の下方から回転軸に沿って入射する励起光を直角に反射して1個の試料容器に導くために直角プリズムを固定配置した。さらに、該仕切り板(3)の外周部に蛍光信号を通過させる2個の孔を設け、それらに蛍光集光用のボールレンズ(6c, 6d)と第二ライトガイド(6a, 6b)から構成された2組の蛍光用光学手段(6)を固定配置した。蛍光信号を通過させる2個の穴と2組の蛍光用光学手段の蛍光信号入射端は、それぞれ試料容器が展開配置された2個の円弧に対向し、しかも該円弧の共通の垂直線上に固定配置した。第二ライトガイド(6a, 6b)としては、プラスチック製の

光ファイバー（6a、6b、ファイバー部の径1mm×長さ約80mm）を使用した。2個の第二ライトガイドの蛍光信号出射端は、互いに近接させ、しかも、後述する第一ライトガイドの蛍光信号入射端に対向配置させ、仕切り板の回転軸に連結固定した。

【0052】更に該仕切り板（3）には、円筒状の回転軸（7a）、ステッピングモーター（7b）、軸受（7c）、回転スリット（7d）、回転位置センサー（7e）、伝達ギア（7f）及びカップリング（7g）から構成される駆動手段（7）を連結した。これにより、仕切り板（3）とこれに固定された励起用光学手段（5）及び蛍光用光学手段（6）は、駆動手段の動作に応じて一体的に回転することになる。また回転スリットと回転位置センサーを装備することにより、仕切り板の回転の状態、即ち各瞬間に蛍光検出がなされている試料容器の位置を検出することも可能となる。

【0053】光ファイバーを多数束ねた第一ライトガイド（1）として、光学顕微鏡の照明伝達手段として使用されているリング型ライトガイド（ファイバー素線径： $\phi 30\mu\text{m}$ 、ファイバー素線数：約9万本、バンドル径： $\phi 9.5\text{mm}$ 、リング径： $\phi 38\text{mm}$ ）を使用した。このリング型ライトガイドは、本来、バンドル部から照明光を入射させ、光学顕微鏡の観察対象物をリング部から出射した光で照明する目的で使用されるものである。本例では、このリング型ライトガイドの光伝達の方角を逆転させ、リング部を蛍光信号の入射端、バンドル部を出射端として利用している。

【0054】第一ライトガイド（1）の蛍光信号入射端、すなわち、リング部をそのリング中心が仕切り板の回転中心軸上にくるように固定静置した。前述のように、第二ライトガイドの蛍光信号出射端は仕切り板の回転に伴って、リング状の軌跡を描く。従って、2個の第二ライトガイドの蛍光信号出射端を第一ライトガイドのリング部に沿って近接対向配備するならば、第二ライトガイドから出射した蛍光信号は、仕切り板の回転状態に拘わらず、常に第一ライトガイドに入射し、光センサーに伝達されることになる。

【0055】また、リング型ライトガイドの蛍光信号出射端（バンドル部）には、波長選択用の光学フィルター（干渉フィルター；520nm）を挟んで光センサー（光電子増倍管）を近接配置した。さらに、励起光源としてアルゴンイオンレーザーを使用し、488nmのレーザー光を励起光として使用した。

【0056】以上の部品のうち、サンプルホルダー、仕切り板とその回転駆動機構、仕切り板に固定装備された励起用光学手段と蛍光用光学手段及び第一ライトガイドのリング部は、ベース板1、ベース板2及び支柱などによって、それぞれの位置関係は規程されるよう設計し、組み立てを行った。また、ベース板2に、励起光源から発した励起光を回転軸に沿って入射させるための反

射鏡として直角プリズムを微調整可能に設置した。

【0057】さらに、サンプルホルダーには、その上面形状を円環状とし、その内周部と外周部に加熱ヒーター（9a、9b）と温度センサー（10a、10b）をそれぞれ1個ずつ貼付した。なお、加熱ヒーターとしてテープヒーターを、温度センサーとして白金測温抵抗体を使用した。さらに、サンプルホルダー、仕切り板と一部の回転駆動手段、仕切り板に固定装備された励起用光学手段と蛍光用光学手段、および、第一ライトガイドの蛍光信号入射部を断熱槽内に収容した。断熱槽は、ポリアセタール系のプラスチックや発泡ポリエチレンなどの熱伝導率の小さい材料で形成した。これにより、外部と熱遮断した上で、試料を高精度に温度制御し、酵素反応などのインキュベーション機能を具備した。

【0058】以上に説明した蛍光検出装置は、次のような作用により試料の蛍光信号を検出する。アルゴンイオンレーザーから発したレーザー光は、回転軸の下方に設けられた反射プリズムにより回転軸に沿って上方に反射される。レーザー光は、その後、仕切り板上に設けられた直角プリズムによって試料容器方向に反射され、試料容器に収容された試料を励起する。試料が発した蛍光はサンプルホルダーの下部から射出され、仕切り板に配置された蛍光用光学手段の孔と集光用のボールレンズおよび、第二ライトガイドを経由して、第一ライトガイドの蛍光入射端（リング部）に集光される。第一ライトガイドによって伝達された蛍光は、520nmの干渉フィルターによって波長選別された後、光電子増倍管により電気信号に変換され、検出される。

【0059】32個の試料容器は二つの円弧上に固定して展開配置されているため、仕切り板の回転に従って、レーザー光による励起と蛍光用光学手段による蛍光収集が順次、実施されることになる。これは、多数の試料（本例の場合32個）について、蛍光検出を容易に実現できることを意味する。また仕切り板を長時間に渡って繰り返し回転することにより、これら試料の蛍光信号の経時的変化の様子を間欠的にモニターできることになる。

【0060】

【発明の効果】本発明の蛍光検出装置によれば、次のような効果が得られる。複数の試料容器を保持できるサンプルホルダーは固定配置されているため、試料容器に収容された各試料に対しては高精度な温度調節が可能であり、これにより多数の試料を迅速処理できる。しかも、試料容器を固定配置して搬送しないことから、搬送中に試料間の温度格差が生じたり、搬送時の振動やゆれによりキャリアオーバーが生じる危険性も排除できる。

【0061】温度調節手段を装備した場合であっても、光センサーをその外部に配置することができるため、温度上昇に伴うノイズ上昇もなく、高感度な信号検出が可能である。しかも1個の光センサーしか使用しないこと

からコストを低減することができ、同時に装置の小型化を図ったり、複数の光センサーを使用する場合に必須となる各センサーの感度補正という煩雑な作業も省略することができる。更に、1個の光センサーからの信号を処理するだけで多数試料の蛍光信号の経時的变化を知ることができるのであるから、データ処理に伴う負担も軽い。特に光センサーとして好ましく光電子倍增管を採用すれば、非常に高感度の蛍光検出装置を提供することができる。該構成によれば、微弱の蛍光信号に対しても感度は十分である。

【0062】第一ライトガイドの光ファイバーも本発明では固定配置されており、第二ライトガイドも仕切り板に固定配置され同一形態を保って回転することから、その屈曲状態は一切変化することがない。従って光ファイバーの屈曲状態の変化に伴う光伝達効率の変化はなく、結果的に再現性の良好な信号検出が可能である。

【0063】本発明の装置では、機械的移動部分を仕切り板と励起用および蛍光用の光学手段のみに限定している。これらには付随するケーブル類もないため、移動範囲の制限もケーブル切断の危惧もない等、機械的トラブルも最小限に抑制できる。このように本発明では、試料容器又はライトガイドの搬送・移動は一切行わないが、仕切り板と光学手段を回転させることで多数試料のリアルタイムモニタリングを実現するものである。

【0064】また、特願平10-254913号のようなスキャナー型蛍光検出装置で問題となる、試料設置数の増加に伴う課題、すなわち、装置全体の大型化、高コスト化も比較的抑制することができる。特に、試料容器の展開配置を複数の円弧上に配置する場合に効果は大きい。

【0065】以上のように、本発明は、(a)高精度な温度調節、(b)多数試料の迅速処理、(c)高感度、(d)高信頼性(断線や可動部品の動作不良等に代表される機械的トラブルの低減、蛍光検出の再現性の向上、キャリーオーバーの危険性の低減)、(e)低コスト(装置構成の単純化、データ処理等において高価な部品を使用しないこと)、そして、(f)装置の小型化、等の要求を満たした、試料を所定温度でインキュベシ

ョンしつつリアルタイムモニタリング可能な蛍光検出装置を提供するものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の蛍光検出装置の概略を示すための図である。

【図2】温度調節手段を装備した本発明の蛍光検出装置の概略を示すための図である。

【図3】従来のスキャナー型蛍光検出装置の概略を示す図である。

【図4】本発明の蛍光検出器の一実施形態を説明するための全体図である。

【図5】図4に示した蛍光検出器の一部を詳細に説明するための正面図である。

【図6】図4に示した蛍光検出器のサンプルホルダー部分と温度調節手段を詳細に説明するための断面を示す正面図および平面図である。

【図7】図4に示した蛍光検出器の仕切り板及び仕切り板に固定装備される励起光光学手段と蛍光光学手段を詳細に説明するための断面を示す正面図および平面図である。

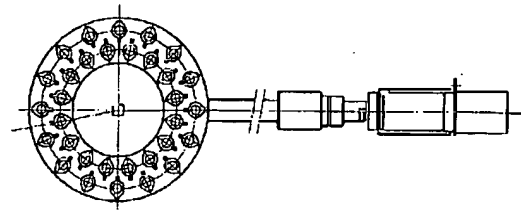
【図8】図4に示した蛍光検出器の第一ライトガイドの一実施形態を説明するための図である。

【図9】図4に示した蛍光検出器の一部で、温度調節手段の断熱槽を詳細に説明するための断面を示す正面図である。

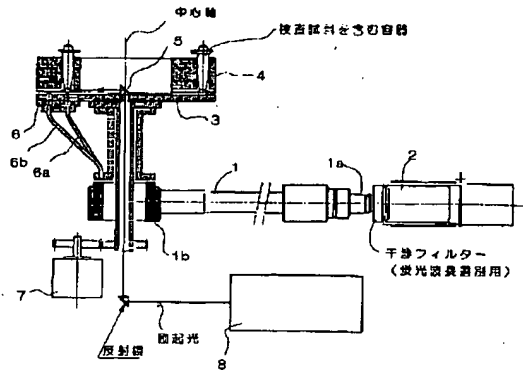
【符号の説明】

1 ライトガイド、1a ライトガイドのバンドル部、1b ライトガイドのリング部、2 光センサー、3 仕切り板、4 サンプルホルダー、4a サンプルホルダーの上の円環状部品、4b サンプルホルダーの下
の円環状部品、5 励起用光学手段、6 蛍光用光学手段、7 駆動手段、7a 回転軸、7b ステッピングモーター、7c 軸受、7d 回転スリット、7e 回転位置センサー、7f 伝達ギア、7g カップリング、8 光源、9a 加熱ヒーター、9b 加熱ヒーター、10a 温度センサー、10b 温度センサー、11 断熱槽

【図1】

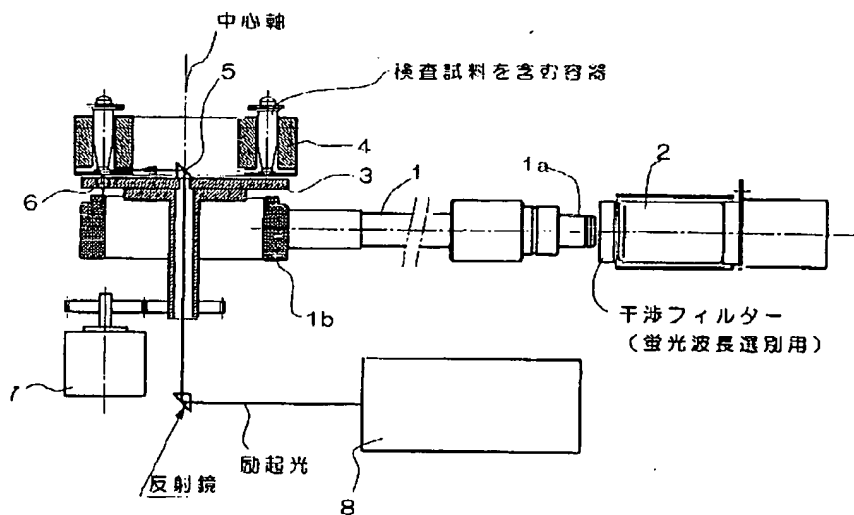
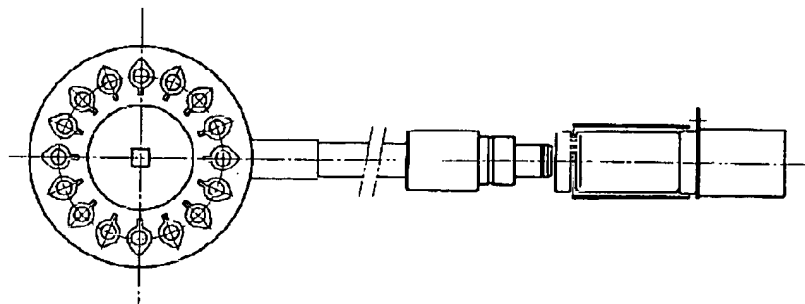


平面図

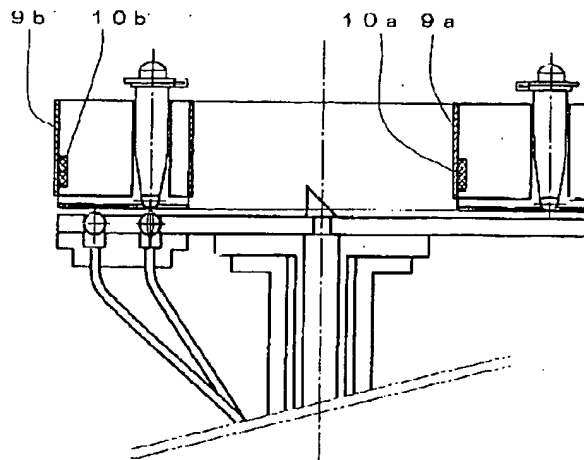


正面図 (一部断面)

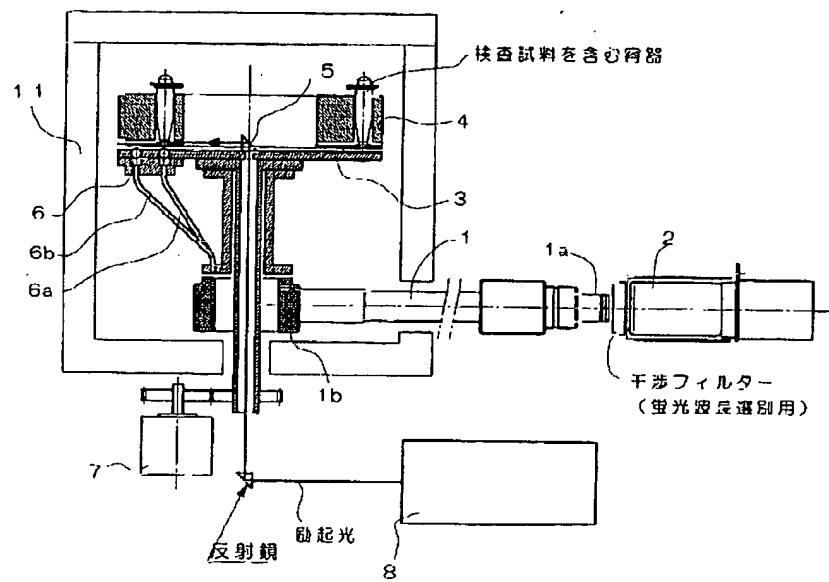
【図3】



【図2】

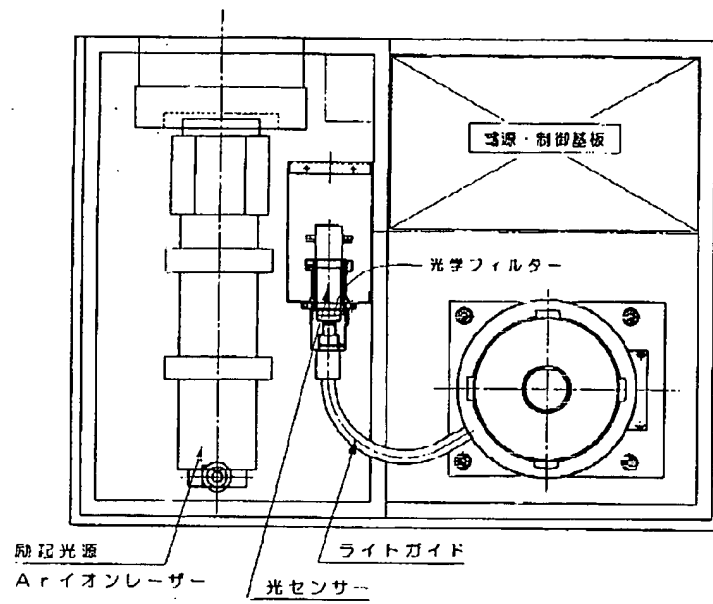


温度調節手段の拡大図（2：1）

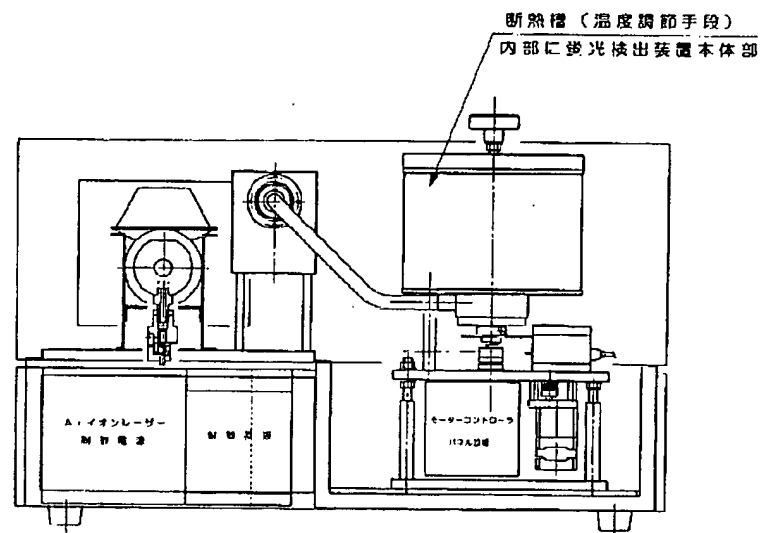


正面図（一部断面）

【図4】

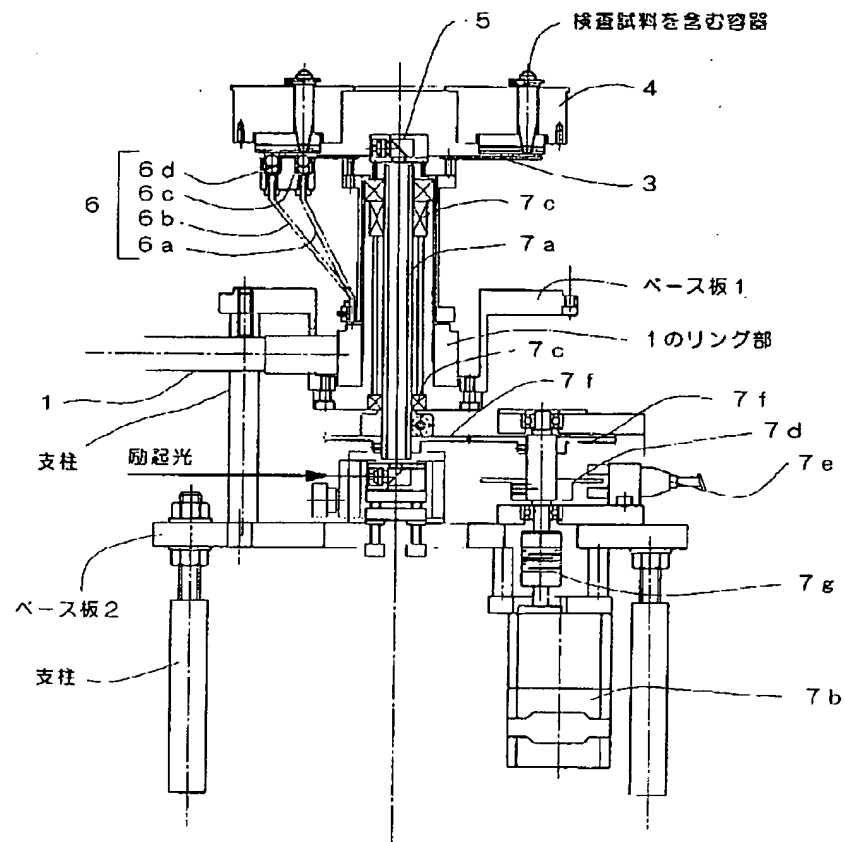


平面図

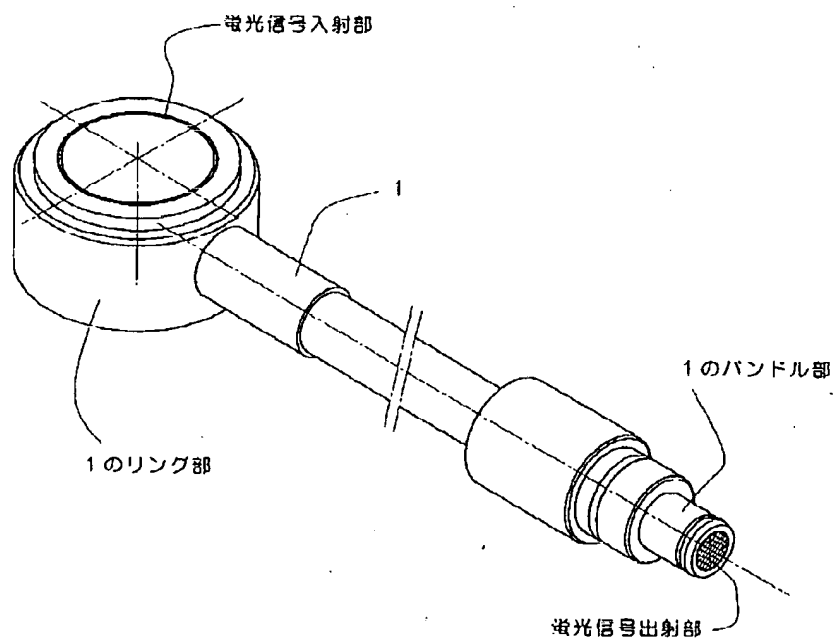


正面図

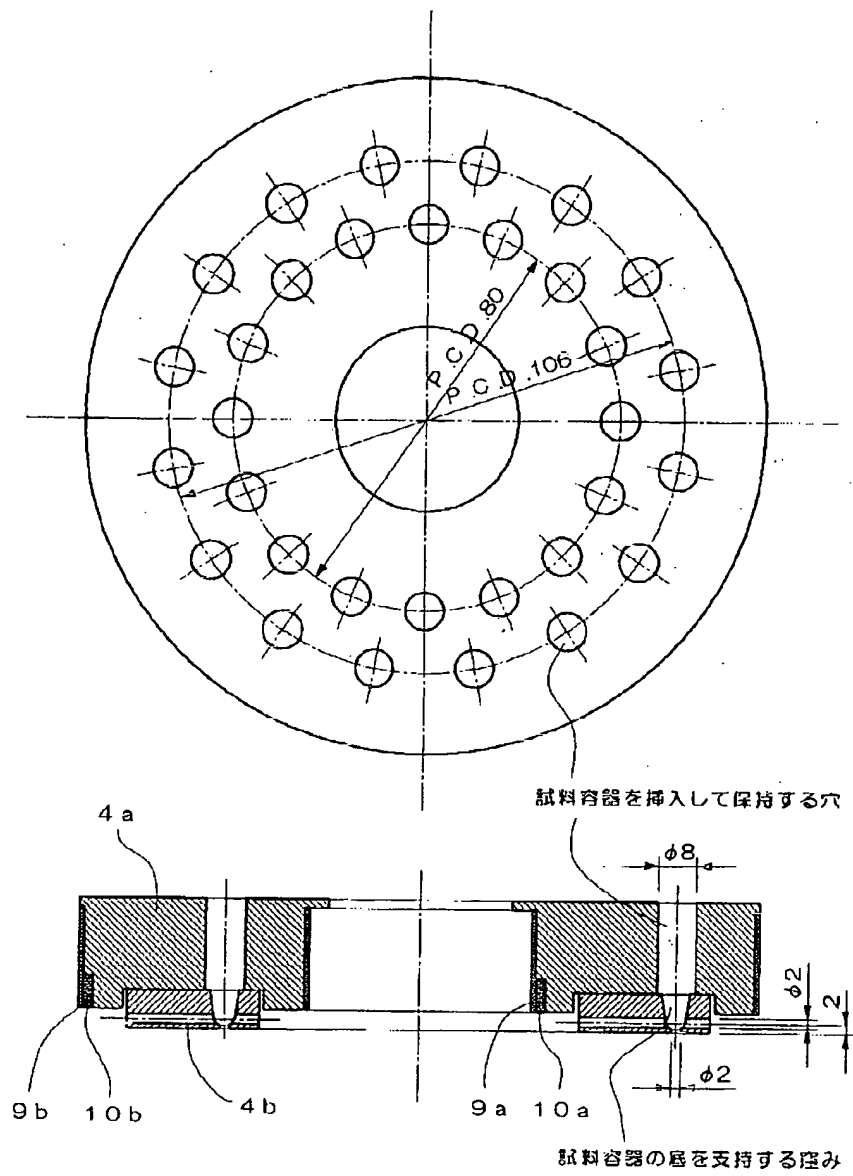
【図5】



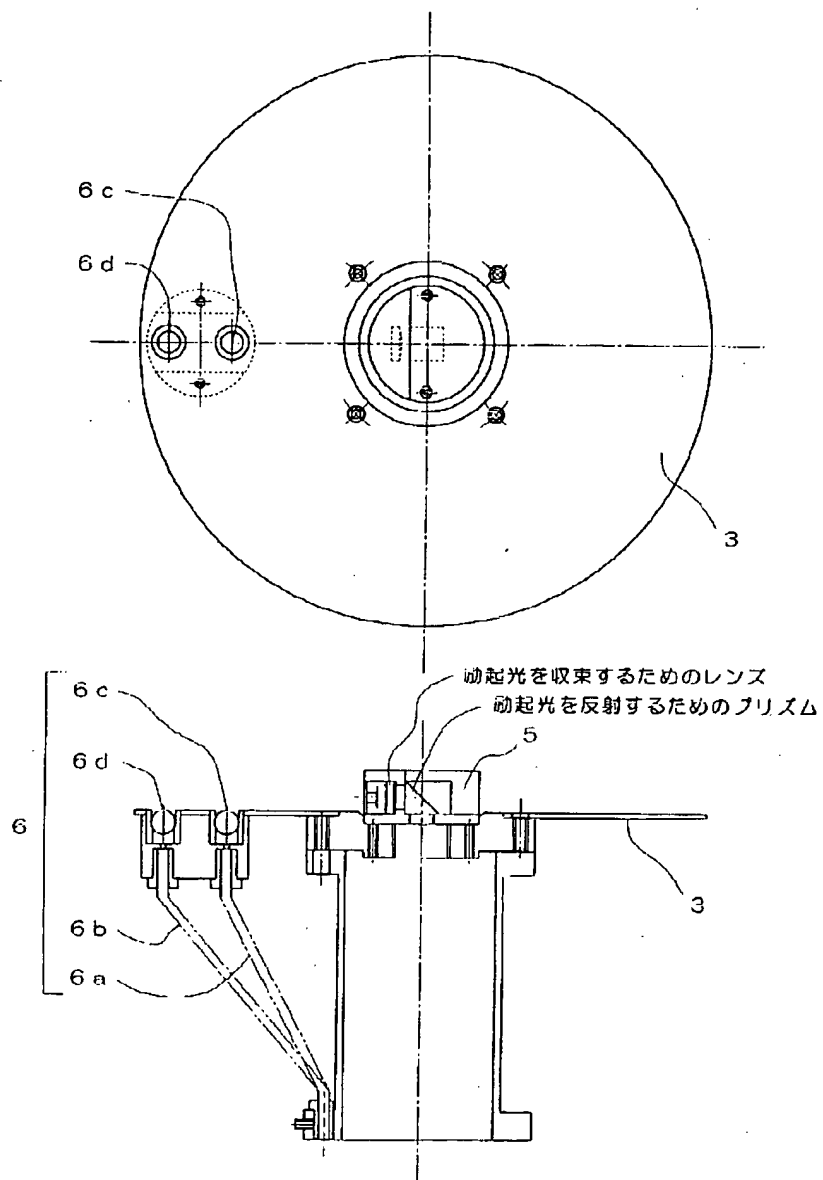
【図8】



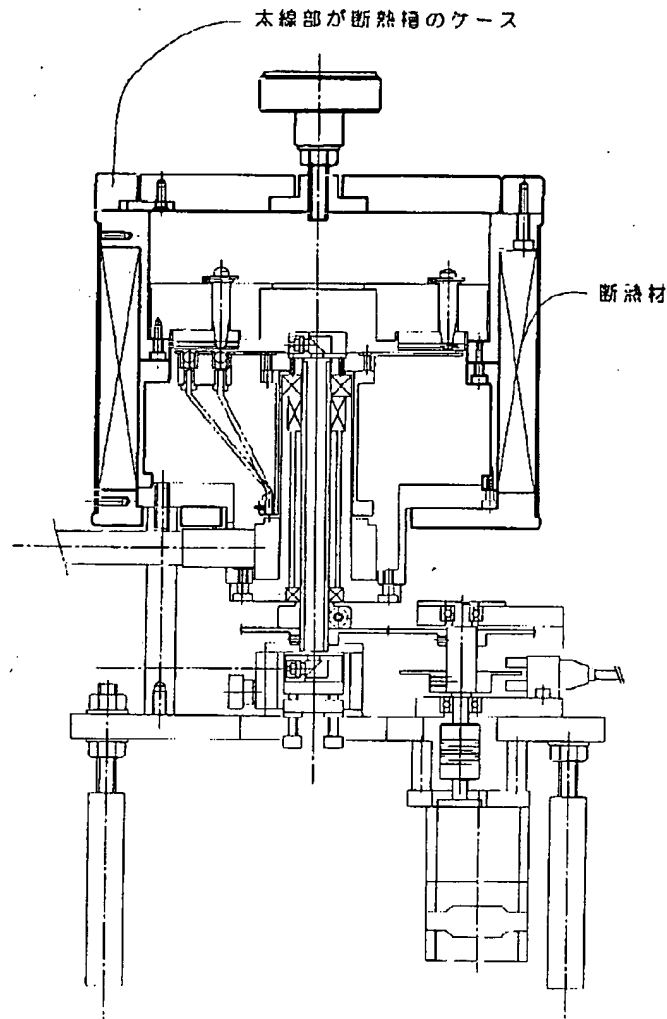
【図6】



【図7】



【図9】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 CA03 DA02 EA01
FA01 GA02 GA04 GA07 GB03
GB07 GB18 GB19 GB21 HA05
JA03 KA09 LA01 MA01 MA11
2G054 AA03 AA08 AB02 BB13 CA21
CE02 EA03 EB14 FA12 FA16
FA33 FB08 GA04 GB02
2G058 AA09 BB02 BB15 CA02 CB04
CF02 CF12 GA01